Übertragungsversuche von Spülwasser aus Nasenrachenraum Grippekranker auf Kaninchen.

Allgemeine Bemerkungen über Blut- und Lungenveränderungen bei Experimenten an diesen Tieren.

Inaugural-Dissertation

zur

Erlangung der Doktorwürde

der

Hohen Medizinischen Fakultät

der

Universität in Basel

vorgelegt von

Adolf Hottinger

aus Basel

Verlagsbuchhandlung Julius Springer in Berlin

1923.

R. UNIV.
BIBLIOTHEEK
LEIDEN

Von der medizinischen Fakultät Basel genehmigt auf Antrag von
Prof. R. Massini und
Prof. R. Stähelin.

Übertragungsversuche von Spülwasser aus Nasenrachenraum Grippekranker auf Kaninchen.

Untersuchungen über Blut- und Lungenveränderungen bei Experimenten an diesen Tieren.

Von

Adolf Hottinger.

(Aus der Medizinischen Klinik der Universität Basel [Dir. Prof *R. Staehelin*]).

Mit 26 Textabbildungen.

Im Jahre 1921 haben die Amerikaner *Frederik L. Gates* und *Peter K. Olitsky* in verschiedenen Arbeiten im Journal of experimental Medicine den Erreger der Grippeepidemie von 1918, 1920 und 1921 nachzuweisen versucht[1]).

Sie haben in einer Reihe von Publikationen folgendes dargetan:

1. Der Erreger der Grippe kommt im Nasen-Rachensekret der Erkrankten vor. Man findet ihn am besten innerhalb der ersten 36 Stunden eines unkomplizierten Falles von typischer Influenza. Er reproduziert im Tierversuch immer dieselben pathologischen und klinischen Erscheinungen wie auch beim Menschen.

Nach intratrachealer Injektion des Erregers zeigen sich an Kaninchen und Meerschweinchen Conjunctivitis, Sträuben der Haare, Gewichtsverlust, Temperaturanstieg als nicht ganz regelmäßig auftretende Symptome einer Infektion, regelmäßig aber tritt eine starke Leukopenie für 2 Tage mit speziellem Abfall der „mononuclear cells" ein. Die Tiere erholen sich wieder; tötet man ein solches Tier am 3. Tag nach der Injektion durch Nackenschlag, so finden sich bei der Autopsie volumen pulmonum auctum, Emphysem, Ödem, diffus zerstreute Hämorrhagien. Mikroskopisch: Ödem, Emphysem, intra- und interalveoläre Blutungen, Verbreiterung der Alveolärsepten, Hyperämie der Capillaren, leichte Infiltrationen mit großen einkernigen Zellen.

2. Der Erreger der Grippe ist filtrierbar durch Berkefeldkerzen.

3. Man kann diesen Erreger züchten, und zwar teils direkt aus dem Nasen-Rachensekret Grippekranker, teils aus künstlich infizierten Tieren.

---

[1]) Journ. of the Americ. med. assoc. 1920, S. 1497; 1921, S. 640. Journ. of exp. med. **33**, 125, 361, 373, 713. 1921; **34**, 1. 1922; **35**, 1, 553, 813. 1922; **36**, 501. 1922.

Der Erreger wird Bacillus pneumosintes genannt (von *πνεύμων* = pulmo, und *σίντης* = devastator).

Eigene Versuche.

Technik.

Die einen Versuche wurden genau nach den Angaben der Amerikaner angestellt. Patienten mit typischer unkomplizierter Influenza (Symptome: Kreuzschmerzen, Gliederschmerzen, Schnupfen, Conjunctivitis, Rötung der Gaumenbogen, Fieber) wurde innerhalb der ersten 36 Stunden des Krankseins der Nasen-Rachenraum mit steriler 0,9 proz. Kochsalzlösung gespült. Das Spülwasser wurde eine Zeitlang geschüttelt und dann teilweise unfiltriert, teilweise durch Berkefeldfilter 8 filtriert, geimpft.

Die Kaninchen wurden mehrere Tage kontrolliert. Für die Impfung wurden sie gefesselt, eingespannt, teilweise mit Äther leicht betäubt, teilweise überhaupt ohne Narkose operiert. Es folgten Depilation am Hals, Incision über der Trachea, Freilegen der Trachea, Injektion von 3 ccm Flüssigkeit intratracheal mittels einer Spritze mit feiner Nadel ohne Druck auszuüben. Darauf Naht und Kollodiumverband.

Das Blut wurde nach leichter thermischer, mechanischer, selten flüchtiger chemischer Reizung (mit Xylol, um die Vene anzuschwellen) aus der Randvene der Ohren entnommen, und zwar möglichst schnell und direkt aus der Vene. Die absoluten Leukozytenzahlen wurden nach *Thoma Zeiß* gezählt. Die prozentualen Verhältnisse wurden in Deckglasausstrichen, gefärbt nach *Pappenheim* [kombinierte *Jenner-May-Giemsa*-Färbung[1])] ausgezählt, und zwar wurden die Ausstriche angefertigt durch Ausziehen eines Blutstropfens auf einem Deckglase mit der Kante eines anderen Deckgläschens.

Meistens trat bei der Injektion ein leichter dyspnoischer Anfall ein, gefolgt von großen Atemexkursionen.

Blutkontrollen wurden 2—5 Tage nach der Injektion ausgeführt, darauf wurden die Tiere durch einen Nackenschlag getötet.

Aus Gründen der Raumbeschränkung können wir leider höchstens ein Drittel unserer Versuchsprotokolle publizieren, doch ist das Gesamtresultat aus den folgenden Tabellen und aus der nachherigen Besprechung der Ergebnisse ersichtlich.

Übersicht über die Versuchsanordnungen.

K = Kaninchen, Nummern = K Nummer und zugleich Seitennummer im Protokollbuch III; F-Reihe bedeutet: Reihe von Tieren, welchen nur filtrierte Flüssigkeiten injiziert wurden, C-Reihe = Reihe von Tieren, denen nur zentrifugierte Flüssigkeiten injiziert wurden. Erstes Zeichen + oder — = positiver resp. negativer klinischer Ausfall. Das zweite + resp. — = positiver resp. negativer pathologisch-anatomischer Befund ± = unsichere Befunde. O = nicht untersucht. ⇓ = filtriert durch Berkefeldfilter 8 resp. Chamberlandkerze Filter F. ↓ = zentrifugiert.

Versuchsreihe **1.**

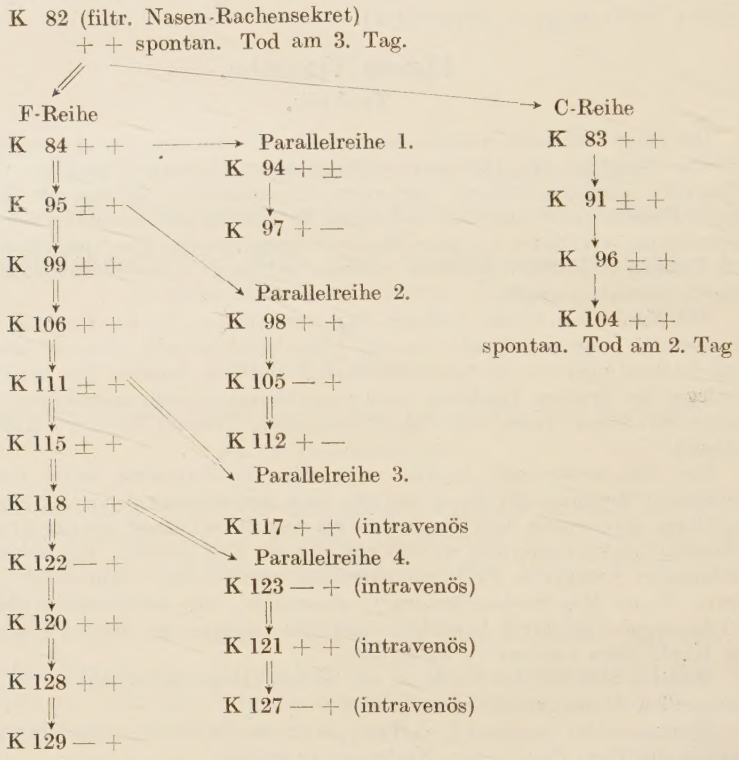
K 80 (filtr. Nasen-Rachensekret)
+ ±

Versuchsreihe **2.**

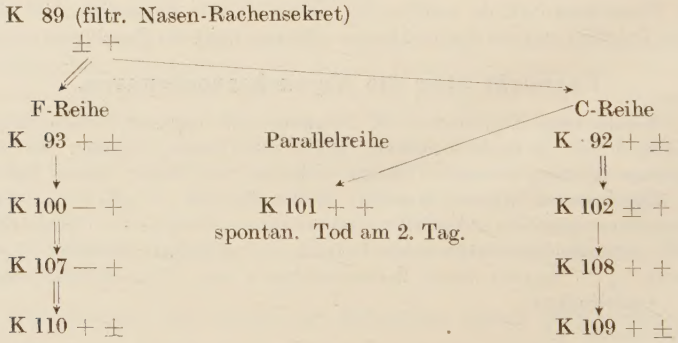
K 81 (filtr. Nasen-Rachensekret)
+ —

[1]) Fol. haematol. **3**, 344, *Pappenheim*.

Versuchsreihe 3.



Versuchsreihe 4.



Übersicht über die Kontrollversuche.

1. Hungerversuche.
   K 120 + 0
   K 121 + 0
   K 131 — 0

2. Fesselung und Einspannung.
   K 133 ± 0
3. Schüttelversuch.
   K 130 + 0
4. Tod während der Operation.
   K 103 0 + (nach Grippevirusimpfung)
   K 135 0 ± (nach NaCl-Injektion)
5. Tod nach Fesselung und Einspannung.
   K 131 0 —
   K 132 0 —
6. Injektionen mit 0,9 proz. NaCl-Lösung.
   K 114 — +
   K 119 — ±
   ‖
   K 124 — + ⟹ Parallelversuch
   ‖ ↘
   K 125 ± + K 126 + + (intravenös)
7. Normale Lunge zu Suspension verarbeitet und geimpft.
   K 113 ± +
   ‖
   K 116 ± +
8. Tod durch Nackenschlag.
   K 134 0 +

Angelegt wurden 4 Reihen von Versuchen, von 4 verschiedenen Patienten, zur Eruierung des Grippeerregers im Tierversuch: dreimal wurde filtriertes, einmal unfiltriertes Nasen-Rachensekret zur Impfung verwendet.

Aus den Protokollen unserer Versuche.

Versuchsreihe 3. K 82.

Nasen-Rachensekret einer typischen unkomplizierten Influenza wird 3 Minuten von Hand geschüttelt, bis das Spülwasser homogen aussieht. Davon werden 3 ccm in kurzer Äthernarkose intratracheal unfiltriert injiziert.

Klinische Erscheinungen: Deutliche Rötung der Conjunctiven, Lichtscheu, Sträuben der Haare am Rücken, Gewichtsverlust.

Blutbild (das Tier wurde schon drei Wochen vor seiner Verwendung kontrolliert, wurde dann aber wegen der plötzlichen hohen Leukocytenwerte 2 Wochen nicht mehr ausgezählt. Nach Verlauf dieser Zeit gingen die Werte wieder herunter):

Abs Zahl der weißen Blutkörperchen		Polynucl.		Lymphocyten	
Vorher	12000	3000	25%	8400	70%
	15900	4300	27%	11000	63%
	17800	5700	32%	11700	60%
	15200	6800	45%	9200	60%
	15000	7350	49%	7350	49%
	18000	7550	42%	7200	40%
	18000	7550	42%	9900	55%
	14700	7600	52%	6020	41%
Nachher	13300	7980	60%	4650	35%
	14000	9100	65%	4200	30%
	6300	3780	60%	2450	39%

Am 4. Tage spontaner Exitus.

Sektion: Abdomen: Milz geschwollen und weich, Leber, Nieren, Nebennieren, Blase, Magen-Darm o. B.

Thorax: Lunge kollabiert nicht, retrahiert sich nicht, ist teils hart, teilweise ödematös, teils emphysematös. Es sind 6 dunkelrote, kirschgerngroße Herde zu sehen, brüchig und hepatisiert. Viele subpleurale Petechien. Die P euren sind glatt und glänzend. Die Trachea ist leicht gerötet, ohne Exsudat.

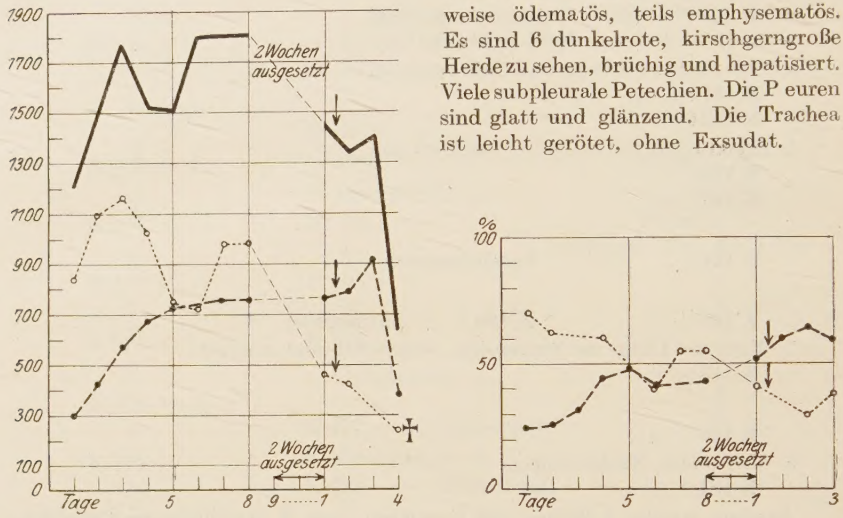


Abb. 1 u. 2. Kaninchen Nr. 82. Filtr. Nasen-Rachensekret intratracheal. Klin. Bild +, path. anat. +

——— = totale Leukocytenzahl
..... = Lymphocyten
– – – – – = Polynucleäre

Mikroskopisch: Hyperämie der Capillaren, Verbreiterung der Alveolarsepten, Ödem, Emphysem, Blutungen inter- und intraalveolär, wenige mononucleäre Zellen, sowie desquamierte Epithelien in den Alveolen sichtbar. An anderen Stellen finden sich abgegrenzte Herde mit intraalveolären Fibrinausscheidungen, Blutungen und starker polynucleärer Infiltration der Septen und Alveolen. Diese angefüllt mit Epithelien und weißen Blutzellen. Starke Hyperämie der Capillaren.

Von dieser Lunge wird ein Teil mit einem der hepatisierten Herde geschnitten. Die übrige Lunge wird mit sterilem Sand verrieben, mit physiologischer Kochsalzlösung aufgeschwemmt, davon die Hälfte zentrifugiert und die überstehende leicht sanguinolente, etwas trübe Flüssigkeit weiter geimpft als C-Reihe. Die andere Hälfte wird durch Berkefeldkerze 8 filtriert mittels 0,75 Atmosphärendruck und das klare, leicht sanguinolente Filtrat weiter geimpft als F-Reihe.

In den Kontrollkulturen der hepatisierten Herde fanden sich Staphylokokken, die Bouillonkultur der übrigen Lungenteile bleiben ohne Wachstum.

C-Reihe. K 83.

3 ccm der Lungengewebssuspension, welche mit 800 Umdrehungen pro Minute zentrifugiert worden war, wurden in kurzer Äthernarkose intratracheal geimpft.

Klinisches Bild: Leichte Conjunctivitis, etwas Sträuben der Haare, Abmagerung.

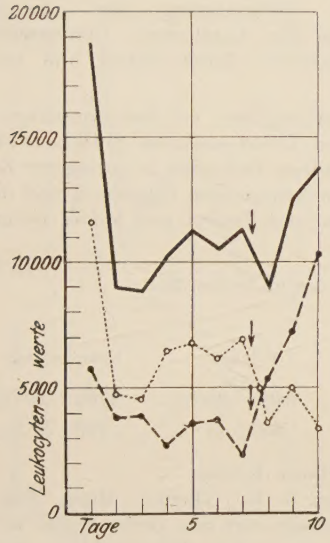
Blutbild:

	Abs. Zahl der weißen Blutkörperchen	Polynukl.		Lymphocyten	
Vorher	18900	5800	31%	11800	62%
	8900	3800	43%	4700	53%
	8900	3900	44%	4600	52%
	10100	2700	27%	6550	65%
	11200	3700	33%	6800	61%
	10600	3800	36%	6250	59%
	11300	3250	29%	7100	63%
Nachher	9000	5500	61%	5500	39%
	12800	7300	57%	5100	40%
	13800	10740	73%	3450	25%

Tötung am 4. Tag.

Sektion: Abdomen o. B.

Thorax: Herz und Trachea o. B. Lungen: Sie kollabieren und retrahieren sich nicht, an den Rändern Emphysem, wenige subpleurale Petechien diffus in die Lunge zerstreut, einige größere Blutungen auf Schnitt tief ins Gewebe reichend, im rechten Mittellappen hinten.



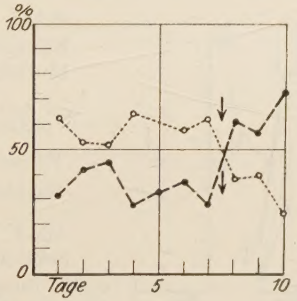


Abb. 3 und 4. Kaninchen Nr. 83. Zentrifugierte Lungengewebsaufschwemmung intratracheal. Klin. Bild +, path.-anat. +

Mikroskopisch: Emphysem, Ödem der Alveolen und Septen, Blutungen intra und interalveolär. Hyperämie der Capillaren. Einige mononucleäre Zellen, einige desquamierte Epithelien.

Von dieser Lunge wurde wieder eine Suspension hergestellt, diese aufgeschwemmt und einige Stunden bei 800 Umdrehungen pro Minute zentrifugiert und weiter geimpft in:

K 91.

3 ccm zentrifugierter Lungengewebssuspension werden intratracheal in Äthernarkose injiziert.

Klinisches Bild nicht typisch. Keine Konjunktivitis, noch irgend andere Krankheitserscheinungen.

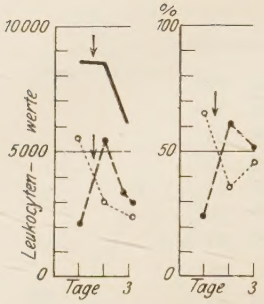


Abb. 5. Kaninchen Nr. 91. Zentrifugierte Lungengewebsaufschwemmung intratracheal. Klin. Bild +, path.-anat. ±

Blutbild:

Abs. Zahl der weißen Blutkörperchen		Polynucl.		Lymphocyten	
Vorher	8500	2100	25%	5500	65%
Nachher	8500	4400	64%	3000	36%
	6000	3100	52%	2600	44%

Tötung am 3. Tag.

Sektion: Abdomen o. B. Thorax: Trachea, Wunde, Herz o. B. Lungen: Etwas voluminös, an den Rändern deutlich Emphysem, Konsistenz vermehrt, makroskopisch keine Blutungen sichtbar.

Mikroskopisch: Typische Läsionen, d. h. Emphysem. Ödem, Verbreiterung der Alveolarsepten, Hyperämie der Capillaren, Desquamation der Epithelie Vorkommen von mononucleären Zellen inter- und intraalveolär.

Kontrollkulturen der injizierten Flüssigkeit ergaben: vor dem Zentrifugieren Wachstum von Staphylokokken und großen Gram-positiven Stäbchen (Verunreinigungen), nach dem Zentrifugieren dieselben Bakterien in geringerer Zahl.

Aus dieser Lunge wurde wieder eine Gewebssuspension dargestellt und diese $^1/_2$ Stunde elektrisch bei 1400 Umdrehungen zentrifugiert und weiter geimpft.

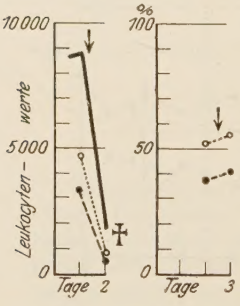


Abb. 6. Kaninchen Nr. 104. Zentrifugierte Lungengewebsaufschwemmung intratracheal. Klin. Bild +, path.-anat. +, spontaner Tod am 2. Tag.

K 104.

Klinische Symptome nicht deutlich.

Blutbild:

Abs. Zahl der weißen Blutkörperchen		Polynucl.		Lymphocyten	
Vorher	8900	3400	39%	4700	53%
Nachher	1600	656	41%	896	56%

Am 2. Tage spontaner Exitus.

Sektion: Abdomen o. B. Thorax: Herz, Trachea o. B. Lungen: Beiderseits tief rot, derb, etwas trübes Exsudat findet sich in beiden Pleurahöhlen, gleiche fibrinöse Auflagerungen auf der Pleura viscer. beiderseits. Dazu zeigen sich die typischen Läsionen, subpleurale Petechien und größere Blutungen, Ödem, Emphysem.

Mikroskopisch: Hyperämie der Capillaren, Verbreiterung der Septen, Ödem, Emphysem, Herde mit reinen Hämorrhagien abwechselnd mit Stellen, welche hämorrhagische akute Entzündung zeigen mit Infiltraten und starker Exsudation von Fibrin, Leukocyten und einkernigen Zellen.

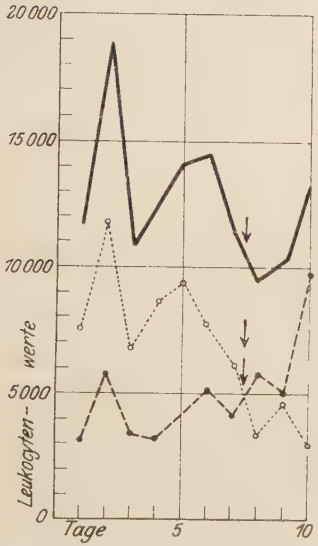
Kontrollkulturen angestellt mit dieser Lunge ergaben Gram-positive Streptokokken und Gram-negative plumpe Stäbchen.

F-Reihe. K 84.

Die halbe Lunge von K 82 wurde mit Sand verrieben, aufgeschwemmt und durch Berkefeldkerze 8 filtriert. Vom Filtrat wurden 3 ccm in Äthernarkose intratracheal injiziert.

Blutbild (7 Tage vorher kontrolliert):

	Abs. Zahl der weißen Blutkörperchen	Polynucl.		Lymphocyten	
Vorher	11700	3150	27%	7600	65%
	19000	5900	31%	11900	63%
	10900	3500	32%	6900	64%
	12500	3350	27%	8750	70%
	14100	4200	30%	9400	67%
	14700	5100	35%	7900	54%
	11200	4250	38%	6400	57%
Nachher	9600	5700	59%	3350	35%
	10300	4750	46%	4750	46%
	13200	9900	75%	3030	23%



Sektion nach Tötung am 4. Tage:
Abdomen, Herz, Trachea o. B., Lungenläsionen typisch. Kontrollkulturen mit Filtrat blieben steril.

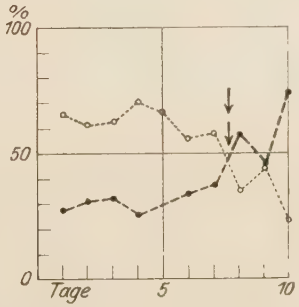


Abb. 7 und 8. Kaninchen Nr. 84. Filtrierte Lungengewebsaufschwemmung intratracheal. Klin. Bild +, path.-anat. +

K 111.

Injektion von 3 ccm Filtrat ohne Narkose.

Blutbild:

	Abs. Zahl der weißen Blutkörperchen	Polynucl.		Lymphocyten	
Vorher	11500	6800	59%	4500	39%
	11700	6550	56%	4100	35%
Nachher	11100	6100	55%	5000	45%
	15300	8250	54%	6700	44%
	7000	3800	54%	2850	41%

Sektion nach Tötung am 4. Tag.
Abdomen, Trachea, Herz o. B.

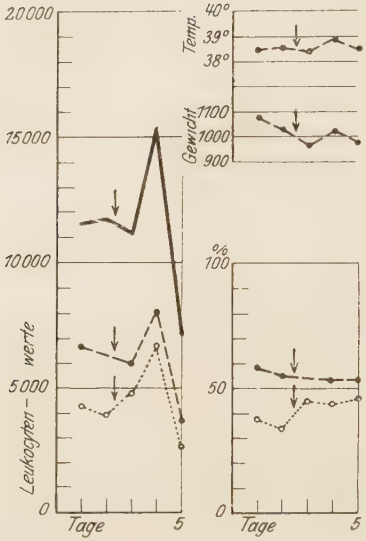


Abb. 9. Kaninchen Nr. 111. Filtrierte Lungengewebsaufschwemmung intratracheal. Klin. Bild +, path.-anat. +

Lunge zeigt makroskopisch und mikroskopisch die typischen Läsionen.

Die halbe Lunge wird in 50proz. Glycerin in Eis aufbewahrt. Mit dem Impfstoff wurden anaerobe Kulturen angelegt. Die gewöhnlichen Kontrollkulturen blieben steril.

Der Rest der Lunge wird wie gewöhnlich verarbeitet und weiter geimpft.

K 120. Injektion von 3 ccm Impfstoff, filtriert durch Chamberlandkerze Filter F intratracheal.

Das Tier wurde 8 Tage vor der Injektion als Kontrollversuch über Blutbildvariation im Hunger benützt. Vor der neuen Injektion hatte es sich wieder ganz erholt und verhielt sich wie die übrigen normalen Tiere.

Blutbild:	Abs. Zahl der weißen Blutkörperchen	Polynucl.		Lymphocyten	
Vorher					
m.	7000	2900	42%	3600	52%
a.	6300	3000	48%	3200	51%
Nachher	6100	2200	42%	2900	55%
	5400	2100	41%	2700	53%
	5100	1100	24%	3300	69%
	4800				

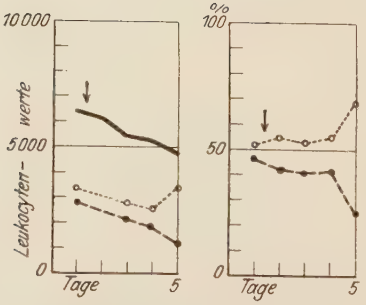


Abb. 10. Kaninchen Nr. 120. Filtrierte Lungengewebeaufschwemmung intratracheal. Klin. Bild +, path.-anat. +

Sektion nach Tötung am 5. Tag.

Abdomen, Trachea o. B.

Lunge makroskopisch und mikroskopisch: typische Läsionen.

Kontrollkulturen des Impfstoffes waren steril. Die halbe Lunge wird in Glycerin auf Eis aufbewahrt. Aus dem Impfstoff wurden anaerobe Kulturen angelegt.

Der Rest der Lunge wird weiter geimpft.

K 94.

Injektion von zentrifugiertem Impfstoff aus der Lunge von K 84 intratracheal ohne Narkose.

Blutbild:

Abs. Zahl der weißen Blutkörperchen		Polynucl.		Lymphocyten	
Vorher	8300	2700	33%	5000	61%
Nachher	6500	4200	65%	2200	43%
	4200	2850	54%	1300	32%

Sektion nach Tötung am 3. Tag.

Abdomen, Trachea o. B.

Lunge makroskopisch: Emphysem, vol. pulm. auct. Vermehrte Konsistenz, wenige kleine stecknadelknopfgroße subpleurale Blutungen im linken Unterlappen.

Mikroskopisch typische Läsionen.

Kontrollkulturen des Impfstoffes blieben steril.

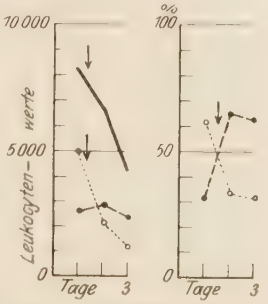


Abb. 11. Kaninchen Nr. 94. Zentrifugierte Lungengewebsaufschwemmung intratracheal. Klin. Bild +, path.-anat. +

K 105.

Injektion ohne Narkose intratracheal von 3 ccm Impfstoff.

Blutbild:

Abs. Zahl der weißen Blutkörperchen		Polynucl.		Lymphocyten	
Vorher	6900	3000	44%	3600	53%
Nachher	6500	3400	53%	3000	47%
	21900	14000	64%	7600	35%

Sektion nach Tötung am 3. Tag.

Abdomen, Trachea o. B. Lungen: Die linke Lunge zeigt die typischen Läsionen, die rechte Lunge kollabiert, retrahiert sich, zeigt keine makroskopischen Verminderungen.

Mikroskopisch finden sich in der linken Lunge die typischen Läsionen, bestehend aus Hämorrhagien, Ödem und Emphysem, Verdickungen der Septen, Hyperämie der Capillaren und kleinere Stellen von polynucleären und rundkernigen Zellen.

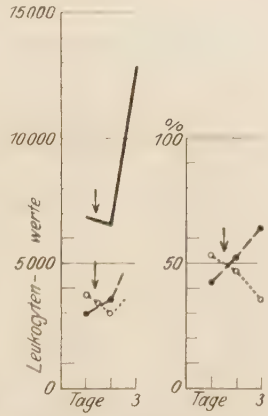


Abb. 12. Kaninchen Nr. 105. Filtrierte Lungengewebsaufschwemmung intratracheal. Klin. Bild −, path.-anat. +

Versuchsreihe 4. K 89.

Nasen-Rachensekret und Sputum eines Patienten mit typischer unkomplizierter Influenza wird durch Berkefeldkerze 8 filtriert. Vom Filtrat werden 3 ccm intratracheal ohne Narkose injiziert.

Klinische Erscheinungen nicht typisch: keine Conjunctivitis, keine deutliche Abmagerung, kein Sträuben der Haare.

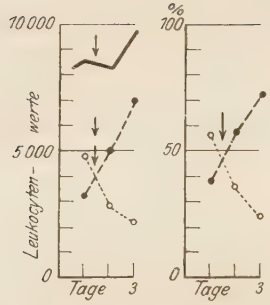


Abb. 13. Kaninchen Nr. 89. Filtriertes Nasenrachensekret intratracheal. Klin. Bild +, path.-anat. +

Blutbild:

Abs. Zahl der weißen Blutkörperchen		Polynucl.		Lymphocyten	
Vorher	8700	3200	37%	4870	56%
Nachher	8500	5000	59%	2890	34%
	9800	7150	73%	2350	24%

Sektion nach Tötung am 3. Tage.

Abdomen, Trachea o. B. Lunge makroskopisch: große in ihre Konsistenz vermehrte Lungen beiderseits. Über beide zerstreut finden sich größere und kleinere hellrote hämorrhagische Herde, auf Schnitt teilweise tief ins Gewebe hineinreichend, in den Oberlappen Emphysem.

Mikroskopisch: Hyperämie der Capillaren, Verbreiterung der Alveolarsepten, Ödem, Emphysem und hämorrhagische Partien mit wenigen infiltrativen Stellen. Diese Stellen bestehen aus Leukocyten, einkernigen Zellen, welche teilweise nicht von Alveolarepithelien zu unterscheiden sind. Andere rundkernige Zellen finden sich auch in den Alveolarsepten.

K 100.

Injektion von 3 ccm zentrifugierten Impfstoffes ohne Narkose intratracheal.

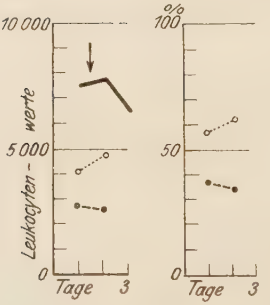


Abb. 14. Kaninchen Nr. 100. Zentrifugierte Lungengewebsaufschwemmung intratracheal. Klin. Bild –, path.-anat. +

Blutbild:

Abs. Zahl der weißen Blutkörperchen		Polynucl.		Lymphocyten	
Vorher	7500	2775	37%	4100	56%
Nachher	7900	2760	35%	4898	62%
	6500				

Sektion nach Tötung am 2. Tag.

Abdomen, Trachea o. B.

Lunge zeigt makroskopisch und mikroskopisch typische Läsionen.

Kontrollkultur des Impfstoffes ergibt kein Wachstum von gewöhnlichen Bakterien.

Die Lunge wird in der bekannten Weise verarbeitet durch Chamberlandkere Filter F filtriert und weiter geimpft.

K 92.

Aus der Lunge von K 89 wurde die hergestellte Suspension eine halbe Stunde bei 800 Umdrehungen zentrifugiert und davon 3 ccm ohne Narkose intratracheal injiziert.

Blutbild:

Abs. Zahl der weißen Blutkörperchen		Polynucl.		Lymphocyten	
Vorher	17600	5600	32%	11790	67%
Nachher	12300	7500	61%	4670	38%
	10300	7300	71%	2990	29%

Sektion nach Tötung am 3. Tag.

Abdomen, Trachea o. B.

Lungen: Makroskopisch findet sich nur eine Spur Emphysem. Keine Blutungen, keine vermehrte Konsistenz.

Mikroskopisch sind dennoch einige kleine Blutungen zu sehen, sowie Emphysem, Verbreiterung der Septen und einige wenige infiltrative Partien.

Diese Lunge wurde in der gewöhnlichen Weise weiter geimpft.

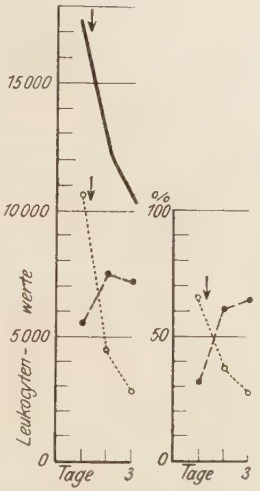


Abb. 15. Kaninchen Nr. 92. Zentrifugierte Lungengewebssuspension intratracheal. Klin. Bild +, path.-anat. +

K 101.

3 ccm aus K 92 gewonnener Suspension, welche $^1/_2$ Stunde bei 800 Umdrehungen zentrifugiert wurde, wird intratracheal ohne Narkose injiziert.

Blutbild:

Abs. Zahl der weißen Blutkörperchen		Polynucl.		Lymphocyten	
Vorher	13500	7000	52%	5400	40%
Nachher	3800	2170	57%	1400	38%

Spontaner Exitus am 2. Tag.

Sektion zeigt Abdomen: Nieren, Nebennieren, Milz, Leber, Magen-Darm o. B.

Trachea: Eine gerötete Stelle unterhalb des Ringknorpels, keine Schwellung, kein Belag, kein Ulcus der Schleimhaut, Gefäße Injektion.

Lunge: Ödem, Emphysem, vermehrte Konsistenz, viele subpleurale Petechien. An der Basis links hinten zwei große $^1/_2$ cm Durchmesser haltende, tief ins Gewebe hineinreichende derbe Herde, ebenso ein ähnlicher Herd gleicher Konsistenz rechts hinten.

Mikroskopisch findensich typische Läsionen, bestehend aus Emphysem. Ödem, Hämorrhagien, inter- und intraalveolär. Verbreiterung der Septen. Einige Stellen mit infitrativen Prozessen. Die oben erwähnten dunkelroten derben Herde weisen mikroskopisch akute Entzündung auf, teilweise mit nekrotischem Zerfall des Gewebes.

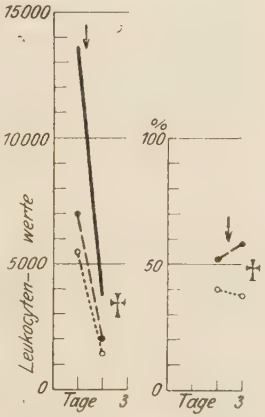


Abb. 16. Kaninchen Nr. 101. Zentrifugierte Lungengewebssuspension intratracheal. Klin. Bild +, path.-anat. +, spontaner Tod am 2. Tag.

Kontrollkulturen des Impfstoffes ergaben kein Wachstum, hingegen zeigten sich in den Kulturen aus den oben erwähnten Herden Streptokokken.

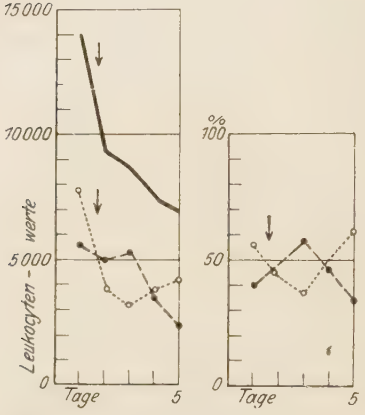


Abb. 17. Kaninchen Nr. 121. Filtrierte Lungengewebssuspension intravenös. Klin. Bild $\frac{+}{-}$, path.-anat. +

K 121.

Injektion in die V. jug. ext. Dieses Tier wurde in einer Voruntersuchung benutzt, um die Blutbildvariation im Hungerzustand festzustellen. Danach wurde das Tier 3 Wochen in Ruhe gelassen und gefüttert. Es verhielt sich in jeder Beziehung normal. Erst jetzt verwenden wir es zu diesem Versuch.

Klinisches Bild keine deutlichen Symptome.

Blutbild:

	Abs. Zahl der weißen Blutkörperchen	Polynucl.		Lymphocyten	
Vorher	14000	5600	40%	7800	56%
Nachher	9200				
	8700	5155	59%	3300	38%
	7500	3500	47%	3750	50%
	6900	2350	34%	4780	62%

Kontrollen.

K 120. (Hunger.)

Zuerst bekam das Tier 3 Tage lang sein gewöhnliches normales Futter und wurde regelmäßig morgens vor der Fütterung kontrolliert. Das Futter bestand aus trockenem Brot und etwas Kohl oder Gras und Heu. Um den Einfluß des Hungers auf die Blutbilder bei den Kaninchen zu übersehen, wurde vom 4. Tag an kein Futter mehr verabreicht. Am 6. Tag bekam das Tier wieder sein gewöhnliches Futter.

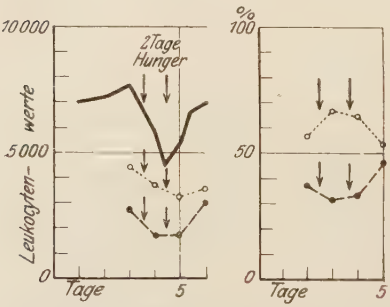


Abb. 18. Kaninchen Nr. 120. Hunger. Klin. Bild +, path.-anat. 0

Blutbild:

	Abs. Zahl der weißen Blutkörperchen	Polynucl.		Lymphocyten	
Vorher	7000				
	7200				
	7500	2750	3.%	4400	59%
Fasten					
morgens	5700	1770	31%	4900	68%
abends	4400				
m.	5400	1840	34%	3510	65%
a.	6800				
Futter					
m.	7000	2900	42%	3600	52%
a.	6300	3000	48%	3200	51%

Das Tier wurde darauf einige Zeit in Ruhe gelassen, dann erst wieder verwendet, und zwar für einen Versuch mit Grippevirus intratracheal. Dort reagierte es nicht deutlich im Blutbild, zeigte aber die typischen Läsionen bei der Sektion.

K 133. (Fesseln.)

Ein frisches Kaninchen wird kontrolliert, und kurz darauf 10 Minuten lang gefesselt und eingespannt. Es folgt kein Narkose, keine Depilation, keine Operation. Nach den 10 Minuten wird das Tier wieder ausgespannt, Blutbildkontrollen während 2 Tagen.

Blutbild:

Abs. Zahl der weißen Blutkörperchen		Polynucl.		Lymphocyten	
Vorher	8500	3400	40%	4930	58%
Nachher	4500	1530	34%	2880	64%
	7800	2965	38%	4680	60%

D. h. die Fesselung kann Leukozytenschwankungen der absoluten Zahl um 4000 machen und leichte Verschiebung der relativen Zahlen um 6%. Dieser Versuch wird abgebrochen. Das Tier findet später keine Verwendung mehr.

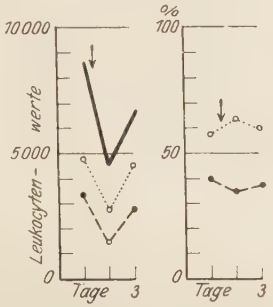


Abb. 19. Kaninchen Nr. 133. Fesselung u. Einspannung in den Operationstisch. Klin. Bild +, path.-anat. 0

K 130. (Schüttelversuch.)

Ein frisches Kaninchen ohne irgendwelche sichtbare Erkrankungen wird mit der Hand am Rückenfell aufgehoben und 30 Sekunden lang geschüttelt, in der Sekunde etwa eine Exkursion von etwa 30—50 cm. Bei dieser Prozedur wurde keine besondere Energie angewendet.

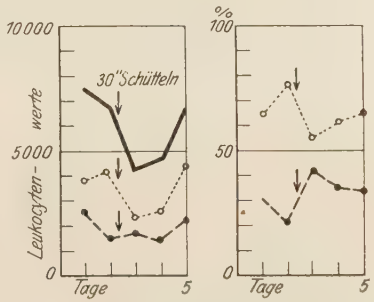


Abb. 20. Kaninchen Nr. 130. 30 Sek. geschüttelt. Klin. Bild +, path.-anat. 0

K 125.

Injektion von 3 ccm des Filtrates aus K 124 intratracheal ohne Narkose. Keine typischen klinischen Krankheitssymptome.

Blutbild:

Abs. Zahl der weißen Blutkörperchen		Polynucl.		Lymphocyten	
Vorher	12000	7080	59%	4680	39%
Nachher	8900	6050	68%	2790	31%
	8900	4070	46%	4700	53%
	9400	5900	63%	3000	32%
	7800	5300	68%	1880	24%
	8900	6050	68%	2860	31%

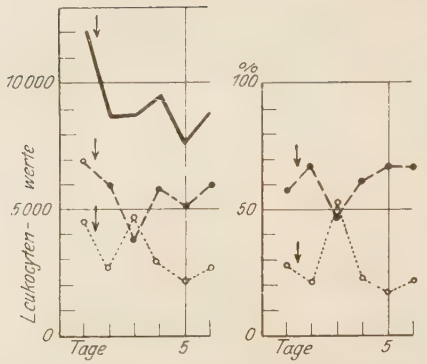


Abb. 21. Kaninchen Nr. 125. Filtrierte Lungengewebssuspension intratracheal. Klin. Bild +, path.-anat. +

Sektion nach Tötung am 6. Tag. Abdomen, Trachea, Herz o. B.

Lungen: Vermehrte Konsistenz, an den Rändern etwas Emphysem. Einige typische hellrote Hämorrhagien in jeder Lunge, sowie verschiedene subpleurale Petechien. Die Pleura glatt und glänzend.

Mikroskopisch finden sich stellenweise typische Veränderungen, bestehend aus Hyperämie der Capillaren, dadurch Verbreiterung der Septen. Hämorrhagien deutlich inter- und intraalveolär. Ödem nicht deutlich. Emphysem teilweise stark. Keine deutlichen infiltrativen Prozesse.

Kontrollkulturen des Impfstoffes waren steril.

Die Lunge wird in Glycerin aufbewahrt.

Anærobe Kontrollkulturen aus Impfstoff und Lunge.

K 126. (Intravenöse Kontrolle.)

Aus dem durch Chamberlandkerze Filter F filtrierten Lungensaft von K 124 werden 5 ccm in die V. jug sin. injiziert ohne Narkose.

Es zeigen sich keine klinischen Krankheitssymptome.

Blutbild:

	Abs. Zahl der weißen Blutkörperchen	Polynucl.		Lymphocyten	
Vorher	12200	8790	72%	3170	26%
Nachher	7300	5040	69%	2000	28%
	8400	5000	60%	3190	38%
	7200	4500	67%	2200	31%
	6000	3900	65%	2000	34%
	14000	9100	65%	4600	33%

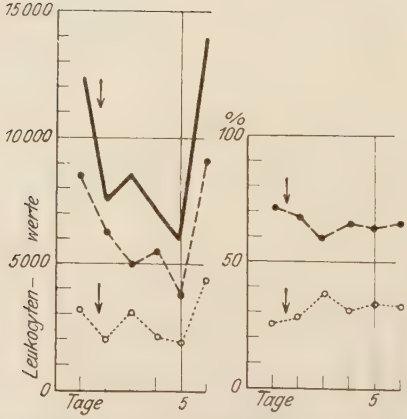


Abb. 22. Kaninchen Nr. 126. Filtrierte Lungengewebssuspension intravenös. Klin. Bild +, path.-anat. +

Sektion nach Tötung am 5. Tag. Abdomen, Trachea, Halsgefäße, Wunde, Herz o. B.

Lungen makroskopisch *sehr typische* Veränderungen.

Mikroskopisch finden sich dieselben Läsionen wie in den vorhergehenden Versuchen. Sehr wenig infiltrative Stellen.

Die Lunge wird in Glycerin aufbewahrt.

Mit Lunge und Impfstoff werden anærobe Kontrollkulturen angelegt.

Ergebnisse der eigenen Versuche[1]).

Im ganzen wurden 54 Versuche angestellt. 37 Kaninchen injizierten wir mit Grippevirus (4 davon intravenös). 17 Versuche wurden als Kontrollen ausgeführt.

1. *Die klinischen Krankheitsbilder der 33 mit Rachenspülflüssigkeit Grippekranker intratracheal infizierten Kaninchen* waren im ganzen außerordentlich verschieden. Die Conjunctivitis haben wir bei sehr wenigen beobachtet, Sträuben der Haare bei fast allen. Temperaturanstiege waren nie sehr deutlich. Immerhin traten regelmäßig Gewichtsstürze ein von 100—500 g.

Die Blutbilder zeigen ein geschlosseneres Bild:

Typische Kurven (1—2 Tage Abfall der absoluten Zahl der weißen Blutkörperchen, verbunden mit speziellem Abfall der Lymphocytenzahl, am 3. Tag Restitution beider Zahlen) zeigen 20 Tiere. Davon waren 10 mit filtriertem Virus (84, 106, 118, 120, 128, 112, 93, 110, 80, 81) und 10 geimpft mit zentrifugiertem Virus (82, 94, 97, 98, 83, 104, 92, 101, 108, 109). 3 Kaninchen starben spontan unter starker präfinaler Leukopenie nach Injektion mit unfiltriertem Virus: K 82 am 3. Tag (in der Lunge wurden Staphylokokken gefunden). K 101 am 2. Tag (in der Lunge waren Streptokokken). K 104 am 2. Tag (in der Lunge waren Streptokokken und plumpe große Gram-negative unbewegliche Stäbchen). Der verschiedenen bakteriologischen Befunde wegen konnten wir zufällige Verunreinigungen des Impfstoffes annehmen. Dadurch war der Exitus der Tiere erklärt.

Atypische Kurven fanden sich bei 7 Tieren: und zwar starke Leukopenie mit schwacher Depression der Lymphocyten bei 2 Tieren: K 96 (zentrifugiert) und K 99 (filtriert). Schwache Leukopenie bei starker Depression der Lymphocyten zeigten 4 Tiere, davon 3 mit Filterimpfstoff infiziert (89, 102, 115), eines mit zentrifugiertem Impfstoff (91). Schwache Leukopenie mit Anstieg der Lymphocyten zeigte ein Tier (111, filtr.).

Negative Kurven zeigten 6 Tiere und zwar Leukocytose: K 95 (für 2 Tage polynucl. Leukocytose, filtr.), K 112 (für einen Tag polynucl. Leukocytose, filtr.), K 107 (für einen Tag poly. L., filtr.), K 129 (für einen Tag poly. L., nacher Lp., filtr.). K 105 (1 Tag mit leichter Lp., darauf poly. L., filtr.). K 100 (für einen Tag poly. L. mit sekundärer Lp., zentrifug.).

---

[1]) In den folgenden zusammengestellten Ergebnissen benutzen wir verschiedene Abkürzungen: filtr. = mit filtriertem Virus geimpft; zentrifug. = mit zentrifugiertem Impfstoff injiziert; L. g. s. = Lungengewebssuspension; K = Kaninchen; Ch. F. = Chamberlandkerze F; Poly. L. = polynucläre Leukocytose; st. = stark; schw. = schwach; Lp. = Leukopenie; L. = Leukocytose; D. = Depression; Anstieg = Ansteigen der Lymphocytenzahl.

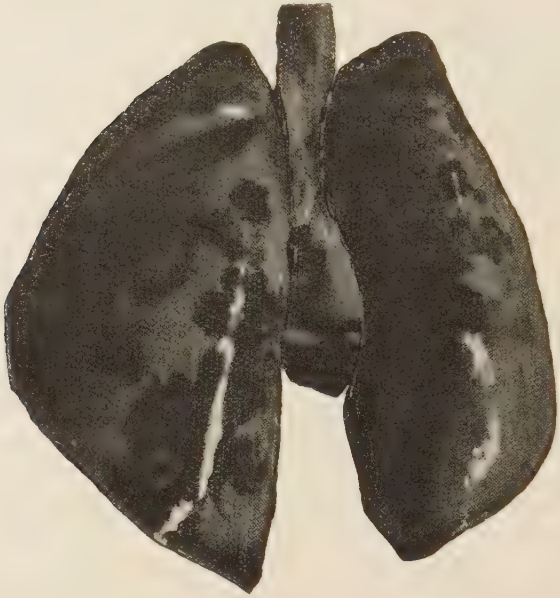


Abb. 23. Kaninchen Nr. 84. Lunge groß, Konsistenz vermehrt. Am Rand mit Emphysem. Buntscheckiges Aussehen, subpleurale Petechien und größere hellrote Herde.

Abb. 24. Kaninchen Nr. 99. Lunge groß. Konsistenz vermehrt, Emphysem des Oberlappen und der Lungenränder. Buntgeschecktes Aussehen wegen vielen kleinen subpleural. Petechien, in den Oberlappen große hellrote hämorrhag. Herde.

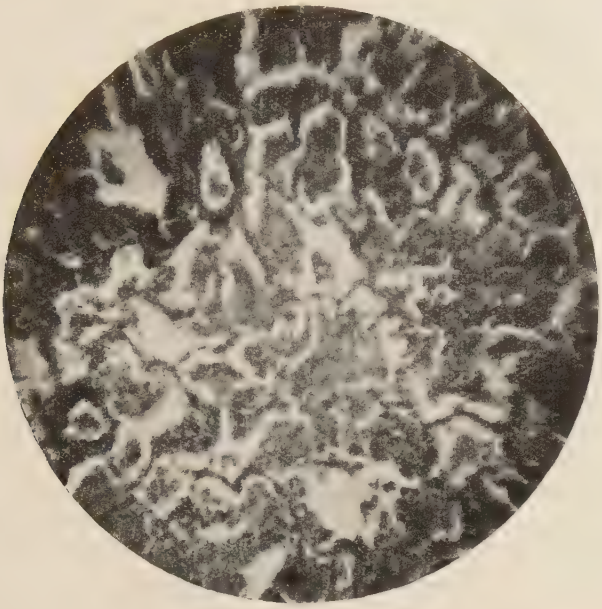


Abb. 25. Kaninchen Nr. 100. Oedem. Emphysem. Hämorrhagische Partien. Blut teils intra-, teils interalveolär. Hyperämie der Capillaren. Septen nicht besonders verbreitert. Einige wenige infiltrative Partien.

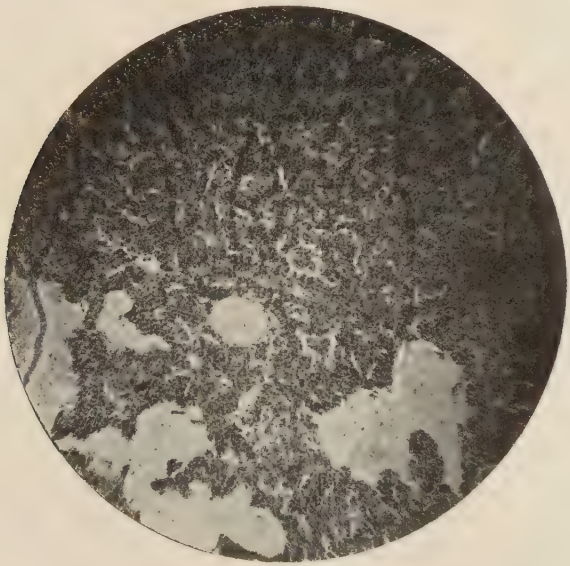


Abb. 26. Verbreiterung der alv. Septen. Ödem. Emphysem, inter- u. intraalveoläre Hämorrhagieen. Desquamation der alv. Epithelien. Infiltration von großen einkernigen Zellen u. einigen wenigen polynukleären inter- u. intra alveolär. Hyperämie der Capillaren.

Die pathologisch-anatomischen Veränderungen waren immer dieselben: *Makroskopisch:* Die Lungen kollabieren nicht und retrahieren sich nicht, sind in ihrer Konsistenz vermehrt, an den Rändern Emphysem. Buntscheckiges Aussehen durch die eigentümlich hellroten Hämorrhagien von verschiedenster Größe. Auf Schnitt zeigen sich Blutungen in der Tiefe, es läßt sich etwas klarer, teilweise leicht getrübter sanguinolenter Saft abstreichen. Die Pleura ist glatt und glänzend, kein Exsudat. Die sämtlichen übrigen Organe finden sich intakt. *Mikroskopisch:* Emphysem, Ödem, mehr oder weniger ausgesprochen, Hyperämie durch Erweiterung der Capillaren, dadurch Verbreiterung der Alveolarsepten. Blutungen in die Alveolen, in die Alveolarsepten und in die Bronchien; Desquamation von Epithelien in den Alveolen, sowie in den Bronchien. Infiltrate waren selten in größerem Maße anzutreffen.

Makroskopisch und mikroskopisch positiv waren 23 Kaninchen und zwar filtr.: 84, 95, 99, 106, 111, 115, 118, 122, 120, 128, 129, 89, 107, 102, 105; zentrifug.: 82, 98, 83, 96, 104, 100, 108, 101.

Makroskopisch negativ, und mikroskopisch positiv waren 7 Tiere, filtr.: 80, 110; zentrifug.: 91, 92, 93, 94, 109.

Makroskopisch sowie mikroskopisch negativ waren 3 Tiere, nämlich K. 81 (filtr., Versuchsreihe 2), K. 97 (Parallelversuch, zentrifug.), K. 112 (Parallelversuch, filtriert durch Berkefeldkerze C).

2. *Die klinischen Bilder der 4 intravenös mit Grippe infizierten Tiere* waren sehr wenig deutlich. Conjunctivitis, Sträuben der Haare und Temperaturanstieg wurden nicht bemerkt. Konstant war jedoch Gewichtsverlust von ca. 200 g.

Die Blutbilder waren:

typisch in 2 Fällen: 117 und 121; 117 Lp. für 3 Tage; 121 Lp. für 4 Tage,

atypisch bei 2 Tieren: 123 (poly. L. für einen Tag), 127 poly. L für 2 Tage).

Die pathologisch-anatomischen Bilder fanden sich bei allen vier intravenös geimpften Tieren makroskopisch sowie mikroskopisch typisch.

3. *Die klinischen Krankheitsbilder bei den Kontrolltieren* zeichneten sich aus durch Fehlen der Conjunctivitis, Fehlen einer deutlichen Temperaturerhöhung. Öfters jedoch konnten wir Sträuben der Rückenhaare beobachten. Konstant trat Gewichtsverlust von 100 bis 300 g ein.

Die Blutbilder waren:

Typisch (Leukopenie und Depression der Lymphocyten) bei 2 Tieren: K 130 (Schüttelversuch), K 126 (intravenös L. g. s. aus NaCl-Kontrolltier) für 4 Tage mit sekundärer Leukocytose.

Atypische Kurven, starke Leukopenie mit Ansteigen der Lymphocyten zeigen 5 Tiere: 113 (NaCl-Injektion), 120, 121 (Hungertiere),

133 (Fesselung), 125 (intratrach. aus NaCl-Reihe). Schwache Leukopenie mit starker Depression zeigte ein Tier K 116 (L. g. s. aus NaCl-Kontrolle).

Negative Kurven wiesen 3 Tiere auf: 114 (NaCl-Injektion, poly. L. für einen Tag, darauf Lp.), 119 (NaCl-Injektion, poly. L. für einen Tag), 124 (L. g. s., Injektion aus 119, poly. L. für 2 Tage).

Pathologisch-anatomische Befunde bei den Kontrollen:

Makroskopisch und mikroskopisch typische Befunde (Emphysem, große in der Konsistenz vermehrte Lungen, subpleurale Petechien und Hämorrhagien, inter- und intraalveolär, Ödem, Emphysem, Desquamation, Hyperämie, breite Septen, seltene Infiltrate), Ödem. Mikroskopisch: Hämorrhagien zeigten folgende Tiere: K 113 (normale L. g. s.), K 116 (L. g. s. aus 113), K 114 (NaCl-Injektion), K 124 (L. g. s. aus NaCl-Kontrolle), K 125 (dito), K 126 (L. g. s. intravenös aus 124), K 103 (Tod in der Operation), K 134 (Tod durch Nackenschlag).

Makroskopisch undeutliche, mikroskopisch typische Befunde wiesen 2 Kaninchen auf: 135 (Tod in Narkose) nach NaCl-Injektion), 119 (NaCl-Injektion).

Negative Befunde zeigten 2 Tiere: 131 und 132 (beide gestorben in der Fesselung, die Lunge makroskopisch und mikroskopisch vollkommen normal.

Blutbilder.

	Mit „Grippe" intratracheal infizierte Tiere	„Grippe" intravenös	Kontrollen
1. *typisch*	20 Tiere: 10 filtr. (84, 106, 118, 120, 128, 112, 93, 110, 80, 81) 10 zentrifug. (82, 94, 97, 98, 83, 104, 92, 101, 108, 109)	2 Tiere: beide filtr. 117 und 127	2 Tiere: (130 Schüttelversuch und 126 L.g.s. intravenös
2. *atypisch* st. Lp. schw. D.	2 Tiere: 96 F ltr., 99 zentrifug.		
st. Lp. Anstieg			5 Tiere: (120, 121 Hunger, 133 Fesselung, 113 NaCl-Injekt. 125 L.g.s.filtr.
schw. Lp. st. D.	4 Tiere: 3 filtr. 89, 102, 115. 1 zentrifug. 91		
schw. Lp. Anstieg	1 Tier: 111 (filtr.)		
3. *negativ*	6 Tiere: 5 filtr. 95 122, 107, 105, 129. 1 zentrifug. Nr. 100	2 Tiere: beide filtr. 123 und 127	5 Tiere: 114 (NaCl) 119 (NaCl), 124 (L. g. s.) 116 (L. g. s.) 131 (Hunger)

Pathologisch-anatomische Veränderungen.

	Mit „Grippe" intratracheal infizierte Tiere	„Grippe" intravenös	Kontrollen
1. *typisch* makrosk. und mikrosk. +	23 Tiere: filtr.: 84, 95, 99, 106, 111, 115, 118, 122, 120, 128, 129, 89, 107, 102, 105. zentrifug.: 82, 98, 83, 96, 104, 100, 108, 101.	4 Tiere: 117, 123, 121, 127, alle filtr.	8 Tiere: 116 (L. g. s.), 103 (Tod in Narkose), 113 (L. g. s.), 134 (Nackenschlag), 114 (NaCl), 124, 125 (L. g. s. intratrach.), 126 (L. g. s. intrav.)
2. *atypisch* makr. — mikr. +	7 Tiere: filtr.: 80, 110.[3] zentrifug.: 91, 92, 93, 94, 109		2 Tiere: 119 (NaCl), 135 (Tod in Narkose)
3. *negativ*	3 Tiere: filtr.: 81, 112. zentrifug.: 97		2 Tiere: 131, 132 (Tod in Fesselung)

Diskussion.

Wie aus den dargestellten und tabellarisch geordneten Ergebnissen hervorgeht, stimmen unsere Resultate, und zwar speziell Blutbildvariation und pathologisch-anatomische Befunde, mit den von *Gates* und *Olitsky* in ihren Versuchen als typisch gefundenen Veränderungen gut überein. Weder bei den Experimenten der amerikanischen Autoren, noch bei den unsrigen zeigten sich Unterschiede zwischen Resultaten der mit filtriertem Virus geimpften Tieren und denen der mit zentrifugiertem Virus geimpften. Im ganzen finden sich bei unseren Versuchen mehr negative, oder nicht ganz eindeutige Resultate. Ebenso sind unsere Kontrollen teilweise positiv ausgefallen, im Gegensatz zu denen *Gates* und *Olitsky*, welche nur negative Kontrollversuche publizieren. Diese Tatsache zwingt uns zu der Frage, ob die Experimente im Sinne von *Gates* und *Olitsky* gedeutet werden können, oder ob wir noch andere Auslegungen zulassen können.

Kritische Besprechung der Blutbilder:

Die normalen Zahlen der Kaninchenblutbilder sind außerordentlich variabel. Jedes Tier hat eine andere absolute Zahl der weißen Blutkörperchen innerhalb einer Grenze von 5000—15000. Eine gewisse Konstanz ist dann aber der individuellen Zahl nicht abzusprechen. Immerhin kommen auch hier eigentümliche, nicht erklärliche Schwankungen vor, oft um über 3000 von einem Tag zum anderen.

Dies wurde für die absoluten Zahlen schon früher konstatiert, und zwar von *Löwit*, *Goldscheider* und *Jakob*, *Bohland*, *Schlesinger*, *Römer*, *Williamson*, *Studer* und *Nägeli*, in ihren Voruntersuchungen zu experimentellen Arbeiten mit Kaninchen[1]).

[1]) *Löwit:* Physiol. und Pathol. des Blutes. 1892. — *Derselbe:* Leukämie. 1900. — *Goldscheider* und *Jakob:* Über Variationen der Leukocytose. Zeitschr. f. klin.

Bei allen diesen Autoren finden sich bei relativ stabilen Werten immer wieder plötzliche unerklärte Schwankungen der abs. Leukocytenkurve um über 3000. Ähnliche Schwankungen weisen auch die Kurven der Amerikaner auf, wenn auch weniger auffällig, da, wie sie angeben, nur Tiere mit sehr großer Konstanz der Leukocytenwerte verwendet worden seien.

Bei den eigenen Voruntersuchungen, welche sich teils über längere Zeit hin erstreckten, teils nur über einige Tage, fanden wir dieselbe Inkonstanz in den Versuchen: 80, 81, 82, 83, 84, 109, 110, 111, 112, 113, 114, 115, 116, 117, 119, in größerem Maße, nämlich Tagesschwankungen von durchschnittlich 2000—3000. In einigen Fällen zeigten sich noch größere Schwankungen um durchschnittlich 3000—5000 (80, 81, 82, 83, 84).

Die relative Verteilung der einzelnen Unterarten der weißen Blutkörperchen wird verschieden angegeben. *Löwit* fand:

Einzellige: 40 %,
Mehrzellige: 60 %.

Goldscheider und *Jakob* geben umgekehrte Werte an, ebenso *Nägeli* und *Studer*, nämlich:

Lymphocyten: 60 %[1]),
Polynucleäre: 40 %.

Diesen Zahlen von *Goldscheider* und *Jakob*, *Studer* und *Nägeli* muß auch ich mich anschließen. Bei den meisten meiner Voruntersuchungen

---

Med. 1894, S. 373. — *Bohland:* Chemotaktische Wirkung der Typhus- und Kolitoxine auf die Leukocyten. Zentralbl. f. inn. Med. 1899, S. 409. — *Schlesinger:* Leukocytose bei exper. Infekt.-Krankh. Zeitschr. f. Hyg. u. Infektionskrankh. 1900, S. 349. — *Römer:* I. D. München. Über exp. Leukocytose. 1890. — *Hirschfeld:* I. D. Berlin. Beitr. zur vergleich. Morph. d. Leukocyten. 1897. — *Williamson:* Zieglers Beitr. z. pathol. Anat. 29, 1901. Über das Verhalten der Leukocytose bei Pneumokokkenerkrankung bei Kaninchen und Menschen. S. 41. — *Stude :* I. D. Zürich. 1903. — *Nägeli:* bei *Studer*. 1903. — *Derselbe:* Lehrbuch der morphologischen Hämatologie und Blutdiagnostik. 1912.

[1]) Die Blutbilder der verschiedenen Autoren sind schwer zu vergleichen, denn einerseits hat *Löwit* seine rel. Zahlen direkt in der Zählkammer ausgezählt und hat dabei nur ein- und mehrkernige Zellen unterschieden, andererseits zählten die andern Autoren die einzelnen Unterarten in gefärbten Präparaten genauer aus und unterschieden Lymphocyten (große und kleine), große Mononucleäre, Übergangszellen, Plasmazellen, Polynucleäre, Eosinophile und Basophile. *Gates* und *Olitsky* stellen eine neue Zählart auf, indem sie unter „mononuclear cells" alle Zellen mit rundem Kern auffassen, diesen einerseits die Leukocyten und andererseits die Übergangszellen gegenüberstellen. Dabei umfassen ihre „mononuclear cells": Plasmazellen, große und kleine Lymphocyten und große Mononucleäre. In unseren Versuchen haben wir sämtliche Unterarten ausgezählt, aber nur Lymphocyten und Leukocyten einander gegenübergestellt. Um zu den Werten der Amerikaner zu gelangen, müssen wir bei unseren Lymphocyten durchschnittlich 3—10 % zuzählen.

fanden sich Werte, welche eher mit denen dieser Autoren übereinstimmten, als mit denen von *Löwit*. Immerhin kommen auch bei den relativen Zahlen normaliter Variationen von Tier zu Tier vor, ebenso wie Tagesschwankungen der relativen Zahlen beim einzelnen Individuum oft um über 10 % (Nr. 80, 81, 82, 83, 84, 109, 110, 111, 112, 113, 114 relative Schwankungen der Lymphocyten und der Leukocyten um durchschnittlich 10 %.

Was nun die von *Gates* und *Olitsky* als typisch beschriebene Blutbildvariation in ihren Versuchen anbetrifft, so ist zu vermerken, daß diese Autoren die Leukopenie als positiv deuten in einer Variationsbreite von 1000—3000 der absoluten Zahlen, dabei sehen wir aber lange nicht bei allen Tieren eine so starke Leukopenie für zwei Tage nach der Injektion. Überdies finden sich einige negative Blutkurven bei Tieren, welche Grippevirus intratracheal erhalten hatten und positiv reagieren sollten. Ebensowenig konstant und gleichförmig ist bei den einzelnen Versuchen der spezielle Abfall der „mononuclear cells".

Die Schwankungen der absoluten Zahlen um 1000—3000 gehören aber sicher in das Gebiet der physiologischen Tagesschwankungen, ebenso wie die „mononuclear depression" teilweise durch physiologische Einflüsse bedingt ist. Immerhin bietet diese letztere ein ausgesprocheneres und im ganzen einheitlicheres Bild, als die Leukopenie der absoluten Zahlen.

Eigentümlich sind die als negative Versuche erwähnten Experimente, welche auf S. 141 des Journ. of exp. Med. 1921 publiziert werden. In diesen Versuchen wurde wie gewöhnlich Grippeserum intratracheal geimpft. Es erfolgte aber keine Schwankung der Blutkurve. Erst einige Tage nach der Injektion zeigen sich Schwankungen von über 3000, welche, wenn sie zufällig sofort nach der Injektion gekommen wären, als typisch hätten angesehen werden müssen. Die Tiere wurden leider nicht getötet.

Verglichen mit der Zahl der positiven Experimente der amerikanischen Autoren sind unsere positiven Befunde etwas seltener, trotzdem aber in über 50 % der Versuche.

Schon *Löwit*[1]) studierte die Ursachen der Veränderung des Blutbildes. Er fand bei kurzer Fesselung eines Tieres sofortige geringgradige Abnahme der Leukocytenzahl. Bei längerdauernder Fesselung tritt langsamere aber länger anhaltende Abnahme der Leukocytenzahl auf. Bei denjenigen Kaninchen, bei welchen normaliter die einzelligen Leukocyten in der Mehrzahl sind, tritt durch Fesselung spezielle Lymphopenie ein. Das Ganze kann zurückgeführt werden auf Abkühlung.

[1]) *Löwit:* Physiologie und Pathologie des Blutes. 1892. — *Derselbe:* Leukämie. 1900.

Goldscheider und *Jakob*[1]) erweiterten die Versuche von *Löwit* und wiesen Leukopenie für mehr als 24 Stunden als Folge von Abkühlung, Fesselung, Injektion von Eiweißarten nach. Pathologisch-anatomisch finden sie: Leber und Lunge stark hyperämisch, Capillaren strotzend gefüllt, einzelne Hämorrhagien; die mittelgroßen Gefäße überfüllt mit Leukocyten, die Capillaren und ganz großen Gefäße leukocytenfrei. Auch *Nägeli*[2]) anerkennt die Möglichkeiten der „Streck-, Fesselungs-, Abkühlungsleukopenie". *Ijuro Fuji*[3]) fand Fesselungshyperglykämie von Stunden bis Tagen, d. h. Reaktion der stofflichen Zusammensetzung des Blutes, nicht nur der corpusculären.

Ganz anders als die von *Gates* und *Olitsky* ausgeführten Kontrollversuche fielen unsere Kontrollen aus. Für diesen Unterschied kann kein genügender Grund angegeben werden, außer dem, daß unsere Tiere im ganzen leichter und jünger waren (1,5—2,5 kg), während *Gates* und *Olitsky* eher ältere (2,5—3,0 kg) schwerere Kaninchen benützten.

Typische Blutbildvariation erreichten wir nur im Versuch 130, d. h. das Tier konnte durch 30 Sekunden langes Schütteln am Rückenpelz so geschädigt werden, daß es mit einer Leukopenie und speziell mit einer Lymphopenie für 2 Tage reagierte $\left(2600\ \frac{2900}{1300}\right)$.[4]) Am zweiten Tag stiegen die Zahlen wieder an und waren am dritten Tage wie vorher. Ebenso erreichten wir im Versuch 126 eine Blutkurve durch Injektion von 3 ccm filtriertem L. g. s. intravenös $\left(4900\ \frac{1100}{3700}\right)$.

Bei 5 anderen Kontrollen fanden wir, daß verschiedene Ursachen bei den Kaninchen eine Leukopenie, allerdings ohne relative Lymphopenie zur Folge haben können. [120 (Hunger): 1800 $\frac{500}{1000}$, 121 (Hunger): 2200 $\frac{1400}{200}$, 133 (Fesselung): 4000 $\frac{2100}{1900}$, 113 (NaCl): 2400 $\frac{1900}{1800}$, 125 (L. g. s.): 3100 $\frac{1900}{1000}$]. Andere Kontrollen waren in bezug auf Blutbildvariation negativ [114 (NaCl), 119 (NaCl), 124 (L. g. s.), 131 (Hunger)].

Ein so starkes Trauma wie dasjenige, welches wir durch Schütteln gesetzt hatten, kommt allerdings im Verlaufe der Experimente nicht in

---

[1]) *Goldscheider* und *Jakob:* Über Variationen der Leukocytose. Zeitschr. f. klin. Med. 1894, S. 373.

[2]) *Nägeli:* Lehrbuch der morph. Hämatologie und Blutdiagnostik.

[3]) *Jjuro Fuji:* The Tokohu. Journ. of exp. Med. 1922.

[4]) Bei den abgekürzten Zahlen bedeutet die erste Zahl vor dem Bruchstrich den maximalsten Abfall der absoluten Zahl, die Zahl im Nenner den Abfall der Polynucleären, der Zähler den Abfallswert der Lymphocyten.

Betracht. Doch zeigt es, daß mechanische Insulte tatsächlich einen großen Einfluß auf die Blutzusammensetzung haben.

Zur Erklärung dieser Mechanismen können wir die alte Theorie von *Goldscheider* und *Jakob*[1]), welche „schockartige Wirkungen" annehmen, oder die moderneren von *Dörr* und *Moldovan*[2]), resp. *Widal*[3]), welche Änderungen der kolloidalen Zusammensetzung des Blutes untersuchten, herzuziehen.

Sehr vorsichtig wollen wir aber sein in der Vergleichung der tierischen mit der menschlichen Erkrankung durch Grippevirus; ob in beiden Fällen eine Leukopenie durch ähnliche Ursachen bedingt wird, ist wohl fraglich.

Kritische Besprechung der pathologisch-anatomischen Befunde:

Unsere Versuche ergaben etwas andere Resultate als die Experimente von *Gates* und *Olitsky*:

Makroskopisch sehen unsere Lungenveränderungen den von ihnen beschriebenen außerordentlich ähnlich, so daß ihre Beschreibung ohne weiteres auf unsere Lungenbefunde angewendet werden kann, und daß wir die farbigen Reproduktionen im Journ. of med. geradezu als getreue Abbildungen unserer Lungenveränderungen publizieren könnten. *Mikroskopisch* ist ein Unterschied, nämlich es finden sich in unseren Präparaten außerordentlich wenig infiltrative Prozesse.

Ganz anders ist der Befund bei Nr. 81, Nr. 97, Nr. 112. Bei diesen drei Kaninchen wurde wie gewöhnlich Grippevirus geimpft. Die Blutbildvariation war bei allen dreien positiv, aber nach der Tötung fanden sich weder makroskopisch noch mikroskopisch irgendwelche Veränderungen.

Eigentümlich sind die Befunde unserer Kontrollen: Als erstes fiel uns ein zufälliges Kontrollexperiment auf: K 103 starb nach der Injektion von Grippevirus während der Naht der Wunde, in gefesseltem Zustande. Das Tier war geimpft worden wie alle anderen Tiere. Die sofortige Sektion zeigte makroskopisch das typische Bild der großen buntscheckigen emphysematösen Lunge, und zwar in außerordentlich starkem Maße. Mikroskopisch fanden sich keine sicheren Infiltrate aber alle übrigen als typisch erwähnten Veränderungen (Ödem, Emphysem, Hämorrhagien, Hyperämie, Desquamation, Septenverbreiterung). Eine Kontrolle (K 135) zeigte uns, daß sich nach Injektion von 3 ccm steriler NaCl-Lösung in Äthernarkose nach Fortsetzung der Nar-

[1]) *Goldscheider* und *Jakob:* l. c.

[2]) *Doerr* und *Moldovan:* Wirkung eiweißfällender Kolloidlösungen auf warmblütige Tiere und ihre Beziehung zu anaphylaktischen Prozessen. Biochem. Zeitschr 1912.

[3]) *Widal:* Presse méd. Nr. 91, 1921, 3. April; Presse méd. 5. März et 12. Febr. Nr. 41: Le choque colloidoclasique Presse méd. Nr. 18 ff. 1922.

kose bis zum Tod des Tieres bei der Sektion makroskopisch etwas Ödem und mikroskopisch selbst Hämorrhagien finden ließen.

Diese zwei Versuche geben schwerwiegende Gründe ab, gegen eine Deutung der pathologisch-anatomischen Befunde wie *Gates* und *Olitsky* sie erklären wollen.

Andere Kontrollversuche mahnen ebenfalls zu äußerster Vorsicht in der Bewertung von Blutungen, Ödem und Emphysem: K 114 (NaCl-Injektion intratracheal) makroskopisch typisch, mikroskopisch Ödem, Emphysem, Hämorrhagien, Desquamation, Hyperämie, keine Infiltrate), K 116 (L. g. s. intratracheal, Lungen makroskopisch typisch, mikroskopisch dieselben Veränderungen ohne deutliche Infiltrate), K 119 (NaCl intratracheal, Lunge makroskopisch und mikroskopisch typisch, aber nicht sehr stark ausgesprochen, Ödem und Infiltrate fehlen), K 124 (L. g. s. sehr typisch makroskopisch sowie mikroskopisch, aber ohne deutliche Infiltrate), K 125 (L. g. s. makroskopisch deutlich, aber nicht sehr stark, mikroskopisch typische Stellen, ohne Infiltrate).

Eine weitere Kontrolle wies deutlich darauf hin, daß auch die Tötungsart unter Umständen die Deutung des pathologisch-anatomischen Befundes beeinflussen kann. Bei diesem Tier, K 134, welches einfach durch Schlag auf den Nacken mit der Hand getötet worden war, fanden sich ausgedehnte Lungenblutungen, ohne Infiltrate allerdings; Blutungen, welche ein eigentümliches sehr ähnliches Bild zeigten wie die von den Amerikanern beschriebenen Lungenveränderungen, sowie die, welche unsere mit Grippe infizierten Kaninchen, und auch die Kontrollen mit NaCl und L. g. s. aufgewiesen hatten. Aus der speziellen Pathologie ist uns schon seit längerer Zeit bekannt, daß Medulla und Halsmarkverletzungen Lungenblutungen verursachen können[1]), d. h. da wir alle Tiere töten müssen, um überhaupt pathologisch-anatomische Veränderungen zu Gesicht zu bekommen, müssen wir außerordentlich vorsichtig sein in der Bewertung dieser Lungenblutungen.

An dieser Stelle möchte ich noch aufmerksam machen, daß uns weder bei den Versuchen von *Gates* und *Olitsky* noch bei den unsrigen Virulenzsteigerungen aufgefallen sind. Das Fehlen derselben beweist natürlich nichts gegen die Annahme eines Erregers.

Zusammenfassung.

Die Nachprüfung der experimentellen Arbeiten von *L. Gates* und *Peter K. Olitsky*, welche zur Isolierung des Grippeerregers mittels des Tierversuchs angestellt worden sind, ergiebt:

I. In 40 Experimenten stimmen weitaus in der Mehrzahl unsere Ergebnisse mit denen der amerikanischen Autoren überein.

[1]) *Aschoff:* Spez. Pathologie 1913, S. 197.

Nach intratrachealer Injektion von zentrifugiertem oder durch Berkefeldfilter resp. Chamberlandkerzen filtriertem Nasenrachenspülwasser Grippekranker, resp. nach intratrachealer Injektion von zentrifugierten oder filtrierten Gewebsaufschwemmungen von Tieren, welche mit Nasenrachenspülwasser Grippekranker geimpft worden waren, fanden sich bei den Kaninchen als klinische Zeichen der Erkrankung:

1. Inkonstant, unsichere Symptome: Sträuben der Haare, Conjunctivitis, Temperaturanstieg, Gewichtsverlust.

2. Sicheres, konstant eintretendes Symptom: Abfall der weißen Blutkörperchenzahl unter spezieller Verminderung der Lymphocytenzahl (depression of mononuclear cells).

Als pathologisch-anatomische Befunde fanden sich nach Töten der Tiere durch einen kurzen coup sec in den Nacken folgende Lungenveränderungen: Emphysem, Ödem, Blutungen, teils inter-, teils intraalveolär. Desquamation der Bronchial- und Alveolarepithelien, Hyperämie der Capillaren, Verbreiterung der Alveolarsepten, wenige sehr geringfügige Infiltrate.

II. In 17 Kontrollexperimenten (Kochsalzinjektionen, Ringerlösunginjektionen, Injektion von filtrierten oder zentrifugierten, sicher avirulenten Gewebssäften) zeigten sich intra vitam ganz ähnliche klinische und nach der Tötung der Tiere pathologisch-anatomische Befunde, oft ebenso stark ausgeprägt nur weniger regelmäßig auftretend wie bei den Tieren, welche Grippevirus erhalten hatten.

1. Hunger, Fesselung, Schütteln, Injektion von Kochsalzlösungen oder normalen Gewebssäften (intratracheal oder intravenös) können Leukopenie (für 1—2 Tage) mit speziellem Abfall der Lymphocytenwerte machen.

2. Nach dem Töten dieser Kontrolltiere können sich dieselben anatomisch-pathologischen Veränderungen, wie bei der Autopsie der mit Grippevirus behandelten Tiere zeigen. Dieselben Befunde erhebt man beim gesunden, durch Nackenschlag getöteten Tier, ebenso kann der mechanische Reiz der intratrachealen Injektion solche Lungenveränderungen zur Folge haben.

Aus den Versuchen geht hervor, daß das Kaninchen ein außerordentlich empfindliches Versuchstier ist.

Versuche, welche zur Isolierung des Grippeerregers an Kaninchen angestellt wurden, sind also mit äußerster Vorsicht zu werten, denn allem Anschein nach können wir die von *Gates* und *Olitsky* als typisch und spezifisch erwähnten Veränderungen, sowie die der Blutzusammensetzung als auch die pathologisch-anatomischen Veränderungen der Lunge nicht als sicher spezifisch ansehen.